

トリアジノインドールの抗ウイルス活性 (SK&F30097)

著者	松本 重宏
号	922
発行年	1976
URL	http://hdl.handle.net/10097/19195

氏 名 (本 籍) 松 本 重 宏

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 9 2 2 号

学位授与年月日 昭 和 5 1 年 2 月 2 0 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭和 3 8 年 3 月 2 3 日
岩手大学農学部農芸化学科卒業

学位論文題目 The Antiviral Activity of Triazinoindole
(SK & F 30097)
(トリアジノインドールの抗ウイルス活性)

(主 査)

論文審査委員 教授 石 田 名 香 雄 教授 山 根 績

教授 立 木 蔚

論文内容要旨

研究目的

Triazinoindole誘導体〔(5-methyl-5H-as-triazine〔5,6-ab〕indole-3-yl)amino〕butanol (SKF30097) に抗ウイルス活性を認め、その作用機作の一部をライノウイルス2型、ポリオウイルス1型を用いて解析した。

材料及び方法

ウイルスはライノウイルス2型(HGP株)とポリオウイルス1型(Brunhilde株)を、細胞はWI-38とHeLa細胞を用いた。感染ウイルスの定量には、プラーク法を用い、ライノウイルスはFialaの方法に準じ、ポリオウイルスはDulbeccoの方法によった。Actinomycin D, アイソトープ標識サイミジン, アルギニン, アラニン, ロイシン, ユリヂンは各々市販の製品を用いた。SKF30097はメジウム(Eagle's MEM)で1mg/mlに溶解後ソニケーションを行ない、必要に応じて希釈し使用した。

実験成績

細胞毒性: SKF30097の細胞毒性を示す濃度はWI-38, HeLa細胞で100μg/mlであり, rounding, elongation等の細胞変性効果が認められた。50μg/ml以下の濃度では両細胞に毒性を示さず, この濃度存在下での細胞継代はWI-38で5代, HeLaでは15代にわたって可能であった。さらにSKF30097存在下で³²P, ³H-uridineのHeLa細胞RNAへの取り込みを検討した結果, ³H-uridineの取り込みは阻害されたが, ³²Pの取り込み阻害は認められなかった。また, アルギニン, ロイシンの蛋白への取り込みもまったく阻害されなかった。以上の成績から本物質50μg/mlは細胞に毒性を示さぬものと考えられる。ウイルス増殖に対する効果:(a)SKF30097の50μg/mlはライノウイルス2型, ポリオウイルス1型の増殖を90%以上抑制する。(b)殺ウイルス効果: 殺ウイルス効果はライノウイルス2型, ポリオウイルス1型共に認められなかった。(c)吸着阻害: 本物質はウイルス増殖を示す濃度(50μg/ml)でもポリオウイルス1型のWI-38細胞への吸着を阻害しなかった。ライノウイルス2型でも同様の結果が得られている(Ann. N. Y. Acad. Sci. 173, 477, 1970)。(d)ウイルスの増殖過程に及ぼす影響: ライノウイルス2型, ポリオウイルス1型感染WI-38細胞に本物質を経時的に加えて, 両ウイルスの増殖を検討した結果, ライノウイルス2型では感染後5時間以内, ポリオウイルス

1型では感染後3時間以内に本物質を加えた場合に感染ウイルス量の低下がみとめられた(ライノウイルス2型で60~90%, ポリオウイルス1型で70~95%の増殖阻害)。両ウイルスの増殖様式からみて本物質はウイルスの progeny 合成の始まる初期に影響をおよぼすものと考えられる。次いで、ライノウイルス2型感染細胞を感染0~4時間、4~8時間、ポリオウイルス感染細胞を感染0~2時間、2~4時間、に各々の時間にわたって本物質で処理し、その後本物質を洗い除き、培養をつづけ感染ウイルス量を測定してみると、本物質除去後、両ウイルスとも一定の latent period の後に対照と同様の増殖を示した。即ち、SKF30097によるウイルスの増殖阻害は本物質の除去により解除される。(e): 感染細胞からのウイルス遊離: SKF30097はWI-38細胞からのライノウイルス、ポリオウイルスの遊離を阻害しない。(f)ポリオウイルスRNAに対する影響: SKF30097, $50\mu\text{g}/\text{ml}$ をポリオウイルス感染細胞に加え、アクチノマイシンD存在下で uridine の viral RNA への取り込みを検討した結果、感染後2時間以内に加えた場合に uridine の viral RNA への取り込みが70~80%にわたって阻害された。

考 察

Triazinoindole 誘導体 SKF30097 は細胞増殖阻害を示さぬ濃度 ($50\mu\text{g}/\text{ml}$) で、ライノウイルス2型、ポリオウイルス1型のWI-38細胞での増殖を特異的に阻害する。この特異的阻害はHeLa細胞でのポリオウイルスRNA合成阻害によっても明らかである。本物質がウイルス増殖の初期に存在することが、ウイルス増殖の阻害につながることで、本物質はウイルス合成の初期段階に作用するものと考えられる。又、ウイルス感染細胞より本物質を除去することにより、ウイルスは一定の latent period の後に正常に増殖する。以上の結果を基にして本物質の作用機序を考えると、ウイルスの uncoating 阻害、または progeny 合成初期あるいは後期に関与するある種の Enzyme の break down が推定される。一方、HeLa細胞において、本物質存在下で ^3H -uridine の細胞RNAへの取り込みが阻害されたが、 ^{32}P のRNAへの取り込み、アルギニン、ロイシンの蛋白への取り込みはまったく阻害されなかった。 ^3H -uridine の取り込み阻害にもかかわらずHeLa細胞の継代が本物質存在下で15代にわたって可能であったのは、一般に動物由来の培養細胞では核酸 precursor の de novo 合成が可能であるためと思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

抗ウイルス剤マルボランの誘導体の1つである〔(5-methyl-5H-as-triasino〔5,6-db〕indole-3-yl) amino〕2-butanolは、アデノウイルス、ワクシニアウイルスなどDNAウイルスにも抗ウイルス活性を有し、さらにRNAウイルス、特にライノウイルスに抗ウイルス活性を有するユニークな物質である。著者は長年にわたって抗ウイルス物質のスクリーニングを行って来たが、1968年に本物質を米国SK & F社の研究陣が発表後、直ちにその作用機序をライノウイルス2型、ポリオウイルス1型を用いてin vitroで明らかにした業績が本論文である。

著者は先ず本物質が殺ウイルス作用を有しないことを明らかにし、次にライノウイルス2型、ポリオウイルス1型のWI-38細胞への吸着を阻害しない事を示した。また両ウイルス増殖の発育初期、即ち3～5時間以内に50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えることにより、抗ウイルス活性を示すこと、また始めから加えておいてもその後のウイルス増殖過程において除去することにより、抗ウイルス活性が消失すること、即ちその作用は可逆的であることを明らかにした。さらにポリオウイルス1型を用いて、ウイルスRNA合成の阻害を検討し、本物質が宿主細胞のDNA、RNA合成を阻害せず、ウイルスRNA合成を特異的に阻害することを明らかとした。

著者がDNAウイルス、RNAウイルスに活性を有するユニークな本物質の作用機作をライノウイルス、ポリオウイルスを用いて解明したことは、今後新しい抗ウイルス物質を探索する上であり得べき阻害過程を示した意味で重要である。

よって本論文は学位授与に値いすると認める。